DOI: 10.11895/j.issn.0253-3820.150437

基于量子点的荧光传感微流纸基芯片离子印迹法检测铜离子

王欣然¹² 李博伟² 尤慧艳^{*1} 陈令新^{*2}

¹(大连大学环境与化学工程学院,大连116622) ²(中国科学院海岸带环境过程与生态修复重点实验室,山东省海岸带环境工程技术研究中心,

中国科学院烟台海岸带研究所 烟台 264003)

摘 要 基于离子印迹技术 采用 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES)作为功能单体,正硅酸乙酯(TEOS)作为 交联剂,以铜离子(Cu²⁺)为模板离子,利用表面印迹法在室温下 pH = 6.5的水溶液中反应,于玻璃纸的表面 合成印迹聚合物。玻璃纤维纸的表面经过活化、接氨基处理,接枝碲化镉量子点,成为具有荧光传感性能的基 底,而接枝在其表面的离子印迹聚合物增强了体系的选择性,线性范围为 0.032 ~ 3.20 mg/L,检出限为 0.012 mg/L。将其应用于湖水及海水样品中加标 Cu²⁺含量的检测,并与 ICP-MS 检测的结果进行了比较,结 果表明,这种基于荧光传感的印迹纸芯片具有良好的分析性能。

关键词 纸芯片;离子印迹聚合物;铜离子;碲化镉量子点

1 引 言

铜作为一种重金属元素,是一种生命有机体必需的微量元素,与人类健康密切相关^[12]。但当体内 铜含量过高时,会对肝脏等器官造成负担,新陈代谢发生紊乱,造成肝腹水、肝硬化等疾病。目前,在机 械制造、建筑工业、医疗等领域中,铜材料的过度使用和不恰当处理导致其成为重金属污染物之一,控制 和监测水体中 Cu²⁺的含量已成为人们关注的热点问题。

人们已将离子印迹聚合物作为高选择性材料,分离水体样品中的 Cu^{2+[3,4]}。离子印迹技术是在分 子印迹技术基础上发展起来的,对模板离子具有高选择性识别能力^[5,6]。金属离子与配合物通过螯合 作用结合,在交联剂、引发剂的作用下发生聚合,聚合后将金属离子洗脱,可得内部含有孔穴的印迹聚合 物,该孔穴与模板离子的形状和大小相符,可与特定的金属离子结合^[7]。微流控芯片(Microfluidie chip) 又称为芯片实验室,将多种单元技术灵活组合并规模化集成在微小可控的平台上,实现了仪器设备的便 携化、高效化、智能化^[8,9]。纸芯片作为微流控芯片的分支,是当前研究的热点之一^[10-12]。它利用纸张 作为基底,代替了常见的玻璃、PDMS等加工材料,通过紫外光刻^[13]、喷蜡打印^[13,44]、等离子体处理^[15]、 丝网印刷^[16]等加工技术,可在纸上加工出具有一定结构的亲/疏水微细通道网络及相关分析器件,构建 微流控纸分析设备,与其它材料相比,纸芯片具有很多优势:轻薄、易变形,方便运输和储存;生物相容性 好,可降解;自身多孔结构无需外力驱动运输样品;便于实现大规模生产等^[17,18]。自 2007 年 Martinez 等^[19]首次提出微流控纸芯片概念后,微流控纸芯片分析技术得到了快速发展^[19]。对一些发展中国家、 偏远地区的临床医学检验有重大意义,在医学、生物学、化学领域有良好的应用前景。

本研究将碲化镉量子点(CdTe QDs) 接枝在经处理的玻璃纤维纸表面 ,制得荧光响应基底。利用表面印迹技术在量子点表面合成以 Cu²⁺为模板的印迹聚合物(Cu-IIP@ CdTe QDs) ,所得到的纸片能够选择性吸附溶液中的 Cu²⁺,由于 Cu²⁺对碲化镉量子点的荧光有猝灭作用 ,因此可以通过荧光信号的变化对溶液中 Cu²⁺的含量进行分析。研究结果表明 ,此印迹纸芯片可以准确、快速检测水体样品中的 Cu²⁺。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

* E-mails: dlyhy@dicp.ac.cn; lxchen@yic.ac.cn

²⁰¹⁵⁻⁰⁵⁻²⁵ 收稿; 2015-06-17 接受

本文系十二五国家重大仪器设备开发专项(No. 2013 YQ17052506) 国家自然科学基金(Nos. 21205131, 21275158)资助项目。

S-4800 冷场发射扫描电镜(日本 Hitachi 公司); FluoroMax-4 荧光光谱仪(Horiba Scientific 公司); Milli-Q 超纯水系统(美国 Millipore 公司); PHS-3C 数字酸度计。

NaBH₄、CdCl₂、N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和1-乙基-(3-二甲基氨基丙基)碳二亚胺盐酸(EDC)均购 自阿拉丁公司;3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES,Sigma-Aldrich公司);其它试剂均为国产分析纯试剂, 玻璃纤维滤纸购于山东德州蓝天环境监测用品厂。实验用水为二次蒸馏水。

2.2 合成水溶性碲化镉量子点

根据 Xu 等^[20] 报道的方法合成 CdTe QDs。称取 68.4 mg CdCl₂ 溶于 75 mL 二次蒸馏水水中 加入 药 63 µL巯基乙酸 用1 mol/L NaOH 快速调节至 pH 9.0 ~ 9.2 ,通氮气 20 min。另取 38.3 mg 碲粉和 40.0 mg NaBH₄ ,加入 1.5 mL 乙醇和 0.5 mL 二次蒸馏水后密封 ,放置于 40℃水浴中加热反应 4 h。取 1 mL淡紫色上层清液(NaHTe) 迅速加入到之前制备的 CdCl₂ 溶液中 氮气保护下回流 2 h ,便得到黄绿 色的 CdTe QDs 其发射波长在 545 ~ 560 nm 之间。量子点溶液需避光保存 60 天内荧光强度不会发生 明显变化。

2.3 制作荧光传感的玻璃纸基底

将玻璃纤维纸裁剪成 1.5 cm × 1.5 cm 浸于 0.2 mol/L HCl 溶液中活化 30 min。取出后浸于 20 mL 50% (*V/V*) 乙醇中,并加入 200 μL APTES 进行接氨基处理,培育 2~4 h,取出并以去离子水洗去多余乙醇,纸片留存备用。

经巯基乙酸修饰的 CdTe QDs 需要经过 EDC/NHS 催化才能接枝在含有大量氨基的玻璃纤维纸上。 EDC 及 NHS 均以 pH = 5.2 的 MES 缓冲溶液配制而成,取 10 mL 制备好的量子点溶液,加入 6 mL 20 mg/mL EDC 及 6 mL 10 mg/mL NHS。将接氨基处理后的纸片浸泡到此溶液中,避光培育 12 h 以上, 得到表面接枝量子点的纸片。

2.4 合成铜离子印迹聚合物(Cu-IIP)

取 1 mL 100 mg/L CuCl₂ 溶液于 20 mL 水中,加入 APTES 40 μ L,振荡 20 min,进行预聚合。加入 50 μ L 氨水和 50 μ L TEOS 继续振荡 30 min。开始聚合后,将接有量子点的纸片浸入其中,选择 80 ~ 100 r/min 转速振荡 4 h 得到接枝 Cu-IIP 的纸片 此过程体系需避光处理。另配制不加 CuCl₂ 的无模板 对照组(NIP) 其它条件不变,培育同样的荧光纸片。选择 EDTA 作为洗脱剂洗脱 Cu²⁺。

2.5 吸附性能

静态吸附实验:将 Cu-HP@ QDs 纸片浸泡于 10 mL $_{P}$ H = 6.5 的不同浓度 Cu²⁺溶液中 ,浓度分别为 0 ,0.032 ,0.32 ,0.64 ,0.96 ,1.28 和 1.60 mg/L。室温条件下振荡培育纸片 ,15 min 后将纸片取出 ,用 荧光光谱仪检测荧光强度。将培育前后纸芯片荧光的变化 F_0/F 作为参数 ,绘制标准曲线 ,考察纸芯片 的性能。

动态吸附实验: 称取 10 mL 0.96 mg/L Cu²⁺ 溶液,室温条件下振荡培育 Cu-IIP@ QDs 纸片 0~28 min 测定不同时间的荧光强度 /绘制动力学吸附曲线。

3 结果与讨论

3.1 形貌表征

采用冷场发射扫描电镜(SEM)对纸片上量子点及 Cu-IIP 的形貌进行表征,由图 1 可见,未处理的 玻璃纤维表面存在杂质且纤维之间空隙较大(图 1A);接枝量子点后,量子点黏附在纸纤维表面,并悬 挂在纤维之间(图 1B);合成的 Cu-IIP 与量子点连接,黏附于玻璃纤维(图 1C);量子点和 Cu-IIP 均匀分 散在玻璃纤维上(图 1D)。

3.2 纸芯片荧光猝灭机理

如图 2A 所示, Cu-IIP 经过交联剂的作用可以与量子点连接,在量子点表面形成印迹层, Cu²⁺可以 通过配合物中的化学键与 CdTe QDs 相互作用,其电荷与量子点表面发生电子转移,弥补量子点表面的 电荷空穴,因而导致量子点荧光猝灭^[21],而洗去 Cu²⁺后,荧光可以恢复。图 2B 显示了量子点、未洗模 板时的 Cu-IIP@ QDs 纸芯片、洗去模板后的 Cu-IIP@ QDs 纸芯片以及未加模板的 NIP 纸芯片的荧光强



图 1 Cu-IIP@ QDs@ paper 的扫描电子显微镜照片: (A) 未处理的玻璃纸; (B) 接枝量子点后; (C) 与量 子点接枝后的 Cu-IIP; (D) 玻璃纤维上覆盖有 Cu-IIP 及量子点

Fig. 1 SEM images of copper ions (II) imprinted polymer (Cu-IIP) @ QDs @ paper: (A) bare glass fiber paper; (B) CdTe quantum dots grafted on paper; (C) Cu-IIP bound with the CdTe QDs; (D) Cu-IIP and the CdTe QDs bound on the fiber

度对比。当 Cu²⁺聚合物与量子点接枝后,对量子点的荧光猝灭效果十分明显(图 2B 中未洗模板),而 洗脱 Cu²⁺后荧光得到部分恢复(图 2B 中洗去模板),未加入模板的 NIP 对照组荧光较强,但仍然低于量 子点溶液的荧光强度。



图 2 (A) 图解 Cu-IIP 与量子点传感机理; (B) 量子点与不同纸芯片的荧光强度对比

Fig. 2 (A) Schematic illustration for the sensing mechanism and (B) FL intensity of QDs and different paper-based analytical devices

3.3 实验条件的优化

裸纸的预处理经过活化和接氨基两步。为暴露玻璃纤维表面的羟基,保证有足够的位点接枝量子 点 需用 HCl 浸泡进行活化。将裸纸浸泡在 0.05,0.1,0.2 和 0.3 mol/L HCl 溶液中 30 min ,得到的荧 光强度如图 3A 所示,选择 0.2 mol/L HCl 作为活化溶液。接氨基时,每片 1.5 cm × 1.5 cm 大小的纸片 使用 200 μ L APTES 即可得到足够强的荧光(图 3B)。考察 pH 值对 Cu-IIP@ QDs 纸芯片的影响时,将 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 作为缓冲体系,由于过酸或过碱的条件都会对量子点的荧光强度有影响,因此选择 在 5.25 ~ 8.35 范围内调节 pH 值(图 3C)。在 pH = 6.5 时,荧光强度变化最大,印迹聚合物对 Cu²⁺的结 合效果最好。由于采用表面印迹法进行聚合,使用 EDTA 可以在很短时间内将 Cu²⁺洗脱下来,而当 EDTA 浓度过高时,会猝灭量子点的荧光(图 3D)。因此,选择使用 0.1 mmol/L EDTA 快速漂洗的方法 进行模板洗脱。最后用水漂洗,除去多余的 EDTA。

3.4 Cu-IIP@QDs 纸芯片吸附性能

静态吸附实验考察了 Cu-IIP@ QDs 纸芯片的检出限和线性范围。Cu-IIP@ QDs 纸芯片检测 Cu²⁺浓 度范围为 0.032 ~ 3.20 mg/L 的荧光强度(图4A) 吸附15 min。与 NIP(图4B) 相比 在同样的浓度范围 内 强度降低较为明显 ,荧光猝灭效果显著; 纸芯片初始荧光强度 F_0 与培育后荧光强度 F 的比值随着 Cu²⁺浓度的增加而增大(图4C) ,Cu-IIP 标准曲线的斜率较大 ,而 NIP 标准曲线的斜率较小 ,且 Cu-II 标 准曲线的线性系数为 0.9953 ,最低检测浓度可以达到 0.012 mg/L 5 次重复测定的相对标准偏差



图 3 (A) HCl 浓度对荧光强度的影响; (B) APTES 用量对荧光强度的影响; (C) pH 值对纸片吸附性能的影 响; (D) EDTA 洗脱浓度和洗脱时间的影响

Fig. 3 (A) Effect of the concentration of HCl on FL intensity; (B) Effect of 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES); (C) Effect of pH to the absorptive capacity of Cu-IIP@ QDs paper; (D) Effect of the concentration of EDTA and the elution time on FL intensity

(RSD)为4.9%。实验证明了 Cu-IIP@ QDs 纸芯片对 Cu²⁺ 有较为灵敏的响应能力。动态吸附实验表 明,Cu-IIP@ QDs纸芯片吸附在15 min 后达到平衡,因此本实验中考察其它性能时的吸附时间为15 min。 3.5 选择性和稳定性

选择浓度均为 20 µmol/L 的 Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Zn²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺, Pb²⁺, Fe³⁺ 和 Cu²⁺,对 Cu-IIP@ QDs 纸芯片的选择能力进行考察,吸附时间均为 15 min。如图 4E 所示,在考察的 11 种离子中,只有 Cu²⁺能显著降低荧光强度,除 Cu²⁺外,只有 Pb²⁺和 Hg²⁺能使纸芯片的荧光稍有猝 灭。另外,纸片的稳定性也是影响实际应用的重要指标之一。选择了同一张纸芯片的 20 个位点进行检 测。结果表明,荧光强度差异小于 15%。纸芯片需在低温(4°C) 避光环境下保存,检测前使其湿润,此 荧光传感纸片的有效时间可达到 30 天。

3.6 实际样品中 Cu²⁺含量的检测

取自然环境中的水样对铜离子印迹纸芯片的实际应用能力进行检测。水样取自烟台大学三元湖湖 水及烟台市莱山区附近海水,进行4个浓度水平加标实验,浓度分别为2,15,30和50 μmol/L,为对比 方便,换算为 mg/L。将样品过滤并以 Na₂HPO₄-NaH₂PO₄ 缓冲溶液调节 pH 至 6.5~7.5,吸附时间为 15 min。对湖水、海水加标样品检测的回收率和 RSD 如表1所示,印迹纸芯片的检测结果与 ICP-MS 的 检测结果一致。

4 结论

本研究制作了荧光纸基芯片,并利用表面印迹技术,将 APTES 作为功能单体, TEOS 作为交联剂, 在玻璃纤维纸的表面合成了铜离子印迹聚合物层,通过 Cu²⁺与碲化镉量子点之间的电子转移作用导致 荧光猝灭,从而定量分析水体样品中 Cu²⁺。这种 Cu-IIP@ QDs 纸片制作方法简单、成本较低、便于携带 并且具有较高的选择性和灵敏度,在现场即时检测方面具有良好的应用前景。



图 4 Cu-IIP@ QDs 纸片吸附性能

Fig. 4 Absorption capacities of Cu-IIP@ QDs paper

(A) 不同浓度的 Cu²⁺ 溶液中 Cu-IIP 纸片荧光强度变化; (B) 不同浓度的 Cu²⁺ 溶液中 NIP 的荧光强度变化; (C) 荧光强度变 化值与 Cu²⁺ 浓度的线性关系曲线; (D) Cu-IIP@ QDs 纸片的吸附平衡时间; (E) Cu-IIP@ QDs 纸片选择性。

(A) and (B) FL intensity of Cu–IIP paper and NIP paper in different concentration of Cu²⁺ solution; (C) relationship between the concentration of Cu²⁺ and F_0/F ; (D) absorption kinetics curves of Cu–IIP@QDs paper; (E) selectivity of Cu–IIP@QDs paper.

样品 Sample	加标浓度 Spiked (mg/L)	测量值 Found (mg/L)	回收率 Recovery (%)	$(\% \text{ RSD} \\ n=3)$	ICP-MS (mg/L)
湖水 Lake water	0	0	-	_	0
	0.13	0.14	103.1	10.9	0.132
	0.96	0.96	100.0	9.4	0.958
	1.92	1.91	99.9	11.5	1.93
	3.20	3.27	102.1	8.2	3.22
海水 Sea water	0	0	-	-	0.021
	0.13	0.15	122.5	7.5	0.140
	0.96	1.02	106.6	11.6	1.013
	1.92	1.96	102.2	10.2	1.94
	3.20	3.21	100.4	10.4	3.20

表1 实际水体样品分析结果

Table 1 Detection results of Cu²⁺ in real aqueous sample

References

- LI Zi-Fan, MEI Ling, XIANG Yu, TONG Ai-Jun. Chinese J. Anal. Chem., 2008, 36(7): 915-919
 李紫凡,梅岭,向宇,童爱军. 分析化学, 2008, 36(7): 915-919
- 2 Jung H S , Kwon P S , Lee J W , Kim J I , Hong C S , Kim J W , Yan S H , Lee J Y , Lee J H , Joo T , Kim J S. J. Am. Chem. Soc. , 2009 , 131(5): 2008 2012
- 3 Wang Z Q , Wu G H , Wang M , He C Y. J. Mater. Sci. , 2009 , 44(10): 2694 2699
- 4 Tobiasz A , Walas S , Trzewik B , Grzybek P , Zaitz M M , Gawin M , Mrowiec H. Microchem. J. , 2009 , 93(1): 87 92
- 5 HOU Lin-Xi, GUO Zhi-Yong, WANG Sui. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, **2008**, 28(10): 2446-2449 侯琳熙, 郭智勇, 王邃. 光谱学与光谱分析, **2008**, 28(10): 2446-2449
- 6 LI Su-Ping, GUAN Huai-Min, XU Guo-Bao, TONG Yue-Jin. Chinese J. Anal. Chem., 2015, 43(2): 294-299
 李素萍,关怀民,徐国宝,童跃进. 分析化学, 2015, 43(2): 294-299

- 7 Segatelli M G , Santos V S , Presotto A B T , Yoshida I V P , Tarley C R T. React. Funct. Polym. ,2010 ,70(6): 325-333
- 8 CHEN Xing, YANG Zhao-Xia, ZHANG Zhao-Hui, RAO Wei, LIU Yu-Nan, CHEN Hong-Jun, HU Xiao-Yun, CAI Ron, NIE Li-Hua. *Chinese J. Anal. Chem.*, 2013, 41(9): 1406 1412
 陈 星,杨朝霞,张朝晖,饶维,刘玉楠,陈红军,胡晓云,蔡蓉,聂利华. 分析化学, 2013, 41(9): 1406 1412
- 9 Lee H , Sun E , Ham D , Weissleder R. Nat. Med. , 2008 , 14(8): 869-874
- 10 Li B W , Jiang L , Xie H , Gao Y , Qin J H , Lin B C. Electrophoresis , 2009 , 30(17): 3053 3057
- 11 YAN Wei, ZHANG Qiong, CHEN Bin, LIANG Guang-Tie, LI Wei-Xuan, ZHOU Xiao-Mian, LIU Da-Yu. Chinese J. Anal. Chem., 2013, 41(6): 822 - 827

严伟,张琼,陈斌,梁广铁,李伟萱,周小棉,刘大渔.分析化学,2013,41(6):822-827

- 12 He Q H , Ma C C , Hu X Q , Chen H W. Anal. Chem. , 2013 , 85(3): 1327 1331
- 13 Li B W , Zhang W , Chen L X , Lin B C. Electrophoresis , 2013 , 34(15): 2162 2168
- 14 Li B W , Fu L W , Zhang W , Feng W W , Chen L X. Electrophoresis , 2014 , 35(8): 1152-1159
- 15 Zhang W, Li BW, Chen LX, Wang YQ, Gao DX, Ma XH, Wu AG. Anal. Methods-UK. , 2014, 6(7): 2066-2071
- 16 Li X , Tian J F , Nguyen T , Shen W. Anal. Chem. , 2008 , 80(23): 9131-9134
- 17 Wang P P , Ge L , Yan M , Song X R , Ge S G , Yu J H. Biosens. Bioelectron. , 2012 , 32(1): 238-243
- 18 Hu J, Wang S Q, Wang L, Li F, Pingguan-Murphy B, Lu T J, Xu F. Biosens. Bioelectron. , 2014, 54: 585-597
- 19 Martinez A W, Phillips S T, Butte M J, Whitesides G M. Angew. Chem. Int. Edit., 2007, 46(8): 1318-1320
- 20 Xu S F , Lu H Z , Li J H , Song X L , Wang A X , Chen L X , Han S B. ACS Appl. Mater. Inter. , 2013 , 5(16): 8146 8154
- 21 Noipa T , Tuntulani T , Ngeontae W. Talanta , 2013 , 105: 320 326

An Ion Imprinted Polymers Grafted Paper-based Fluorescent Sensor Based on Quantum Dots for Detection of Copper ions

WANG Xin-Ran $^{1\ 2}\,$, LI Bo-Wei $^2\,$, YOU Hui-Yan $^{*\ 1}\,$, CHEN Ling-Xin $^{*\ 2}\,$

¹(College of Environment and Chemical Engineering , Dalian University , Dalian 116622 , China)

² (Key Laboratory of Coastal Environmental Processes and Ecological Remediation,

Shandong Provincial Key Laboratory of Coastal Environmental Processes , Yantai Institute of Coastal Zone Research ,

Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China)

Abstract For copper ions (Cu^{2+}) analysis in environmental samples , a novel highly selective fluorescent sensor was fabricated based on the microfluidic paper-based analytical device to detect Cu^{2+} ions in the aqueous samples. The glass fiber paper was activated using HCl solution and incubated in cadmium telluride (CdTe) quantum dots solution to gain a fluorescent substrate. The Cu^{2+} ions imprinted polymers (Cu-IIP) was synthesized using APTES as a functional monomer and TEOS as a cross-linking agent on the surface of the glass fiber in paper at room temperature. This fluorescent sensor was successfully applied to determine the amount of Cu^{2+} ions in aqueous samples that mainly depended on the electron transition between the CdTe quantum dots and the Cu^{2+} ions for specific recognition Cu^{2+} ions. A good linearity was presented in the Cu^{2+} concentration range of 0. 032 – 3. 20 mg/L , and the limits of detection could be achieved at 0. 012 mg/L. Satisfactory recoveries ranging from 99. 9% to 122. 5% were attained for the spiked seawater and lake water samples with four concentration levels of Cu^{2+} ions. The Cu-IIP@QDs paper showed a good performance and significant application perspectives for rapid detection of copper ion by comparing with the results of ICP-MS. **Keywords** Paper-based; Ion imprinted polymers; Copper ions (II); Cadmium telluride quantum dots

(Received 25 May 2015; accepted 17 June 2015)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 21205131, 21275158), the National Key Scientific Instrument and Equipment Development Project (No. 2013YQ17052506).